Aus dem Hygienischen Institut der Universität München

1921

Über die Gewinnung resistenter Milzbrandsporen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde

der

tierärztlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Rupert Reiter

appr. Tierarzt aus Berg ob Landshut

Druck von R. Oldenbourg in München

1920

Aus dem Hygienischen Institut der Universität München

Über die Gewinnung resistenter Milzbrandsporen

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der veterinär-medizinischen Doktorwürde

der

tierärztlichen Fakultät

der

Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von

Rupert Reiter
appr. Tierarzt aus Berg ob Landshut

Druck von R. Oldenbourg in München
1920

Gedruckt mit Genehmigung der tierärztlichen Fakultät der Universität München.

Referent: Professor Dr. Süpfle.

Die Kenntnis der Resistenz der Bakterien hat nicht nur ein theoretisches, sondern auch ein weitgehendes praktisches Interesse. Alle unsere Desinfektionsmaßnahmen hängen in ihrem Umfang und ihrer Intensität vor allem von der Widerstandsfähigkeit des im einzelnen Falle in Betracht kommenden Krankheitserregers ab. Praktisch besonders wichtig ist die Resistenz der Milzbrandsporen, weil die Milzbrandsporen am widerstandsfähigsten von allen pathogenen Keimen sind. Ein Desinfektionsverfahren gilt dann als ideal, wenn es — bei sonstigen entsprechenden Eigenschaften — Milzbrandsporen abtötet, da man dann a fortiori mit Sicherheit darauf schließen kann, daß es auch alle übrigen — zum Teil wesentlich weniger widerstandsfähigen — Krankheitserreger vernichtet. Aus diesem Grund werden Milzbrandsporen häufig als Testmaterial zur Prüfung von Desinfektionsverfahren benützt.

Wie alle Mikroorganismen erweisen sich aber die Milzbrandsporen bei der experimentellen Prüfung nicht unter allen Bedingungen als gleichmäßig resistent. Schon v. Esmarch[1]) hat im Jahre 1899 darauf hingewiesen, wie verschieden der Resistenzgrad von Milzbrandsporenmaterialien, die sich im übrigen anscheinend gleich verhalten, sein kann. Wer viele Desinfektionsversuche angestellt hat, weiß, daß nicht nur verschiedene Stämme, sondern auch verschiedene Kulturen desselben Stammes in ihrem Resistenzgrad oft schwanken. Es bedarf keiner besonderen Hervorhebung, wie außerordentlich wichtig es für die Anstellung von

1) E. v. Esmarch, Die Milzbrandsporen als Testobjekt bei Prüfung von Desinfizientien. Zeitschr. f. Hygiene Bd. 5, S. 67.

Desinfektionsversuchen wäre, die Gewinnung eines Milzbrandsporenmaterials von maximaler Resistenz durch ein bestimmtes Vorgehen garantieren zu können.

In der Literatur finden sich vereinzelt Angaben verstreut, wie man bei der sog. „Vorkultur" am passendsten verfahren soll, um resistente Milzbrandsporen zu erhalten. Systematische vergleichende Untersuchungen über diese Frage liegen jedoch nicht vor. Ich habe daher auf Anregung und unter Leitung von Herrn Prof. Dr. K. Süpfle, dem ich für seine Unterstützung ergebenst danke, Versuche darüber angestellt, welche Art der Vorkultur die resistentesten Milzbrandsporen liefert.

Seit den Untersuchungen von R. Koch weiß man, daß die Bildung der Milzbrandsporen an drei Bedingungen geknüpft ist: 1. geeignete Nährböden, 2. eine gewisse Temperaturhöhe, 3. die Gegenwart von Luftsauerstoff. Die Erfüllung der dritten Bedingung macht bei der Vorkultur keine Schwierigkeit. Die Temperatur spielt nicht nur insofern eine Rolle, als es ein Minimum gibt, unterhalb dessen die Sporenbildung überhaupt ausbleibt, sondern auch insofern, als es ein Optimum gibt, bei dem die resistentesten Sporen gebildet werden. Daß die Temperatur von 37° dieses Optimum darstellt, hat Richard Weil[1]) in besonderen Versuchen in Forsters Institut 1899 gezeigt.

Welche Nährböden aber zur Gewinnung resistenter Milzbrandsporen am geeignetsten sind, ist eine offene Frage. In den meisten Laboratorien wird der gewöhnliche Agar verwendet. Dieser Brauch entspricht dem Verfahren, das Behring[2]) 1890 empfahl: „Sporen von großer und gleicher Widerstandsfähigkeit sowie reichlichster Menge bekommt man von Kulturen auf schräger Agarfläche in Reagenzgläsern, die im Brütschrank noch 3 Tage nach Beginn der ersten Sporenbildung gehalten werden". Der einfache Agar und die gewöhnliche Bouillon lassen sich nach Selter[3]) verbessern durch Zusatz von 2% Milchzucker; Beigaben von Traubenzucker oder Glyzerin hindern dagegen die Sporenbildung. Reichenbach[4]) lobt einen Agarnährboden mit 0,4% Fleischextrakt, 0,6% Pepton und 2% Kochsalz.

1) Richard Weil, Zur Biologie der Milzbrandbazillen. Arch. f. Hyg. Bd. 35, S. 355.

2) Behring, Über Desinfektion, Desinfektionsmittel und Desinfektionsmethoden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9, S. 395.

3) Selter, Über Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien. Zentr. f. Bakt. Bd. 37, S. 186.

4) H. Reichenbach, Die Absterbeordnung der Bakterien und ihre Bedeutung für Theorie und Praxis der Desinfektion. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 69, S. 171.

Heider[1]) dagegen war von der Resistenz der Milzbrandsporen, die auf gewöhnlichem Agar kultiviert waren, nicht befriedigt. Auf der Suche nach anderen Nährböden wurde er durch eine Bemerkung Kochs über das vorzügliche Wachstum der Milzbrandbazillen auf einem Gemisch von Weizen und Wasser veranlaßt, einen Weizenextraktagar anzufertigen, der rasch und reichlich resistente Sporen lieferte. Zu seiner Herstellung werden 500 g Weizengrieß mit 1 l Wasser 12—24 Stunden lang mazeriert, filtriert, das Filtrat mit 1¾% Agar versetzt und neutralisiert. Auch Süpfle und Dengler[2]) haben mit dem Heiderschen Weizenextraktagar resistente Milzbrandsporen erzielt; sie schicken der Vorkultur eine Tierpassage voraus: mit wenig Milzbrandbakterien wird ein Meerschweinchen infiziert; das Herzblut des eingegangenen Tieres wird auf die Oberfläche von frisch erstarrten Weizenextraktagarplatten ausgestrichen; die besäten Platten bleiben bis zur völligen Versporung bei 37°.

Alle übrigen in der Literatur niedergelegten Arbeiten über die Milzbrandsporen behandeln die morphologischen und physiologischen Bedingungen der Sporenbildung überhaupt, beschäftigen sich aber nicht oder mit negativem Erfolg mit der Frage, inwieweit die Resistenz der Milzbrandsporen von der Art der Vorkultur beeinflußt wird.

Versuchsanordnung.

Meine Aufgabe war so zu lösen, daß die verschiedenen in der Literatur vorgeschlagenen Nährböden, sowie andere selbstgewählte Kombinationen von Nährsubstraten in ihrer Eignung zur Gewinnung resistenter Milzbrandsporen verglichen werden mußten. Innerhalb ein und derselben Versuchsreihe waren alle übrigen Bedingungen gleichzuhalten, nur der zur Vorkultur dienende Nährboden mußte variiert werden. Da zu erwarten war, daß Milzbrandstämme verschiedener Herkunft eine verschieden hohe Resistenz besitzen, mußten die Versuche nicht nur mit einem einzigen Milzbrandstamm, sondern parallel mit mehreren Stämmen angestellt werden. Ich benutzte folgende im Institut befindlichen Stämme: 1. Ogawa, 2. Freiburg, 3. Berlin, 4. Behring, 5. Halle. Die verschiedenen Stämme erhielt ich in versportem Zustand an Seidenfäden angetrocknet.

Die Fäden wurden in Bouillon oder Serum 24 Stunden lang im Brutschrank bei 37° zur Auskeimung gebracht. Aus den gewachsenen Kulturen wurden entsprechende Mengen auf die verschiedenen zu vergleichenden Nährböden überimpft; die Kulturen blieben bis zur möglichst vollkommenen, unter dem Mikroskop kontrollierten Versporung bei 37°. Die auf festen Nährböden entstandene

1) Heider, Über die Wirksamkeit der Desinfektionsmittel bei erhöhter Temperatur. Arch. f. Hyg. Bd. 15, S. 341.

2) Süpfle u. Dengler, Die Bedeutung optimaler Nährböden zur Nachkultur bei der Prüfung von Desinfektionsverfahren. Arch. f. Hyg. Bd. 85, S. 189.

Vegetationsmasse wurde mit physiologischer Kochsalzlösung zu einer gleichmäßigen dichten Suspension sorgfältig verrieben; mit der Aufschwemmung wurden ca. 1 cm lange Fäden der geflochtenen Turnerseide Nr. 7 getränkt, die vor der Ingebrauchnahme von dem anhaftenden Kleister durch Ausbrühen in kochendem Wasser befreit und danach trocken sterilisiert worden waren. Hatte zur Vorkultur ein flüssiger Nährboden gedient, so wurden die in ihm gewachsenen Kulturmassen ohne weitere Behandlung an Seidenfäden zur Aufsaugung gebracht. Die mit Sporenmaterial getränkten Seidenfäden wurden einzeln in nicht zu nahen Abständen auf Petrischalen gebracht und über Schwefelsäure im Vakuum getrocknet. Die fertigen Sporenfäden wurden bis zur Anstellung der Resistenzprüfung in gut verschlossenen sterilen Gläsern kühl aufbewahrt. Die meist unmittelbar hernach angeschlossene Resistenzprüfung wurde im Ohlmüllerschen Sporenprüfungsapparate bei strömendem, ungespannten Wasserdampf vorgenommen. Nach gemessenen Zeiten wurden je zwei Fäden der Einwirkung des Dampfes entzogen und der Nachkultur bei 37° unterworfen. Die Nachkultur der Fäden erfolgte nicht in gewöhnlicher Bouillon, sondern in 3 proz. Traubenzuckerbouillon mit Zusatz von 5% Serum, einer Nährbodenkombination, die von Süpfle u. Dengler[1]) 1915 für diesen Zweck angegeben wurde. Der Wert dieses optimalen Nährbodens liegt darin, daß in ihm Sporen noch auskeimen, die durch eine schädigende Wirkung so geschwächt wurden, daß sie in gewöhnlicher Bouillon nicht mehr zur Vermehrung kommen; Milzbrandsporen erwiesen sich in einem der von Süpfle u. Dengler angeführten Versuchsprotokolle noch nach 30 Min. dauernder Dampfeinwirkung bei der Nachkultur in optimalen Nährböden als vermehrungsfähig und virulent, während das gleiche Sporenmaterial nach 6 Min. abgetötet erschien, wenn die Nachkultur in gewöhnlicher Bouillon vorgenommen wurde. Die Benutzung dieses optimalen Nährbodens zur Nachkultur ließ erwarten, daß die etwaigen Unterschiede in dem Resistenzgrad des zu vergleichenden Sporenmateriales sehr deutlich hervortreten würden.

Versuchsergebnisse.

1. Vorkultur in flüssigen Nährmedien.

Ich wollte zunächst feststellen, ob zur Vorkultur flüssige Nährmedien geeigneter oder weniger geeignet als feste Nährböden seien. Obwohl sich schon beim Vergleich von gewöhnlicher Bouillon und gewöhnlichem Agar zeigte, daß die auf Agar gewachsenen Sporenmaterialien resistenter als die Bouillonsporen waren, habe ich doch die verschiedensten flüssigen Nährmedien systematisch auf ihre Tauglichkeit geprüft. Um einen ausgiebigen Kontakt mit Luft zu sichern, wurden die Nährlösungen nicht in Reagenzgläser abgefüllt, sondern in dünner Schicht auf die große Oberfläche vonn Erlenmeyerkölbchen verteilt.

Ich prüfte folgende flüssige Nährmedien: 1. Bouillon; 2. Bouillon verdünnt mit 0,85 proz. Kochsalzlösung 1 : 1 und 1 : 9; 3. Serumbouillon in

1) Süpfle u. Dengler, l. c.

verschiedener Konzentration (Bouillon mit Zusatz von 10% und 33% sterilen Serums); 4. Serum; 5. Serumkochsalzlösung in verschiedener Konzentration (0,85 proz. Kochsalzlösung mit Zusatz von 5%, 10%, 20% sterilen Serums); 6. wässerigen Weizenauszug.

Es erübrigt sich, die Protokolle über diese Versuche anzuführen oder nur eingehender zu besprechen, da keine bemerkenswerten Ergebnisse erzielt wurden. Auf keinem der genannten flüssigen Nährmedien gelang es mir, Milzbrandsporen von nennenswerter Resistenz zu erhalten; die gewonnenen Sporenmaterialien hatten mit einer einzigen Ausnahme nicht einmal 5 Minuten die Einwirkung des strömenden Dampfes lebend überdauert. Bei der mikroskopischen Kontrolle der Versporung fiel auf, daß die Sporulation in den flüssigen Nährmedien nur langsam und unvollkommen auftrat — in auffälligem Gegensatz zum Verhalten auf den meisten festen Nährböden.

2. Vorkultur auf festen Nährböden.

Es wurden folgende feste Nährböden miteinander verglichen: 1. gewöhnlicher Agar; 2. Serumagar (Agar mit 10—20% Serumzusatz); 3. Blutagar (Agar mit 10% Blutzusatz); 4. 2 proz. Milchzuckeragar nach Selter; 5. 2 proz. Kochsalzagar nach Reichenbach; 6. Weizenextraktagar nach Heider; 7. Kartoffeln.

Bei den ersten orientierenden Vergleichsuntersuchungen stellte es sich bald heraus, daß die Vorkultur auf Kartoffeln keine Sporen beachtenswerter Resistenz lieferte. Ebenso zeigte sich übereinstimmend, daß der gewöhnliche Agar in seiner Leistung durch Zusatz von Serum oder Blut nicht verbessert werden konnte.

Bei den späteren Versuchen beschränkte ich mich daher auf die vergleichende Prüfung von Agar, Milchzuckeragar, Reichenbachagar und Weizenextraktagar. Das Ergebnis eines solchen Versuches gibt Tabelle I wieder.

In Tabelle I zeigt sich die große Überlegenheit des Weizenextraktagars über alle übrigen geprüften Nährböden. Auch mikroskopisch war die Versporung auf Weizenextraktagar bei weitem am befriedigendsten; es wurde eine hervorragend reiche Ernte an schönen, kräftigen Sporen gewonnen, bei der auffiel, daß schon nach zweitägiger Bebrütung fast nur freie Sporen zu sehen waren.

Der Befund, daß Reichenbachagar resistentere Sporen lieferte, als gewöhnlicher Agar, ließ daran denken, daß der hohe Kochsalzgehalt des Reichenbachagars vielleicht eine Rolle spiele. Daher wurde versucht,

Tabelle I.[1]) Dampfresistenz des Milzbrandstammes Ogawa bei verschiedener Vorkultur.

Versporte Fäden werden in Bouillon zum Auskeimen gebracht; mit diesem Material werden die zu vergleichenden Nährböden beimpft. Nach eingetretener Versporung wird die Vegetationsmasse jeder Vorkulturart an Seidenfäden angetrocknet. Vornahme der Resistenzprüfung: 2. VIII. 19.

Vorkultur auf:	Einwirkung des Dampfes in Minuten				
	5	10	15	20	25
Agar	+	—	—	—	—
Milchzuckeragar .	+	—	—	—	—
Reichenbachagar .	+	+	—	—	—
Weizenextraktagar	+	+	+	+	—

ob der Weizenextraktagar, der nach der Vorschrift von Heider gar keinen Zusatz von Kochsalz enthält, etwa durch einen bestimmten Gehalt an Kochsalz verbessert werden könne. Dies ist jedoch nicht der Fall; wie meine vergleichenden Versuche ergaben, ist eine geringe Zugabe (0,5%) von Kochsalz ohne Einfluß auf die Eignung des Weizenextraktagars zur Vorkultur; ein Prozentgehalt von Kochsalz, wie ihn der Reichenbachagar besitzt, vermindert dagegen den Wert des Weizenextraktagars erheblich. Zu den weiteren Untersuchungen wurde daher stets Weizenextraktagar ohne Kochsalz nach der Heiderschen Originalvorschrift benützt.

So oft auch die Versuche wiederholt wurden, immer lieferte die Vorkultur auf Weizenextraktagar ein Sporenmaterial von auffallend hoher Resistenz. Allerdings war der Resistenzgrad der einzelnen Ernte beim gleichen Stamm nicht jedes Mal ganz derselbe wie bei der Ernte anderer Versuche, obwohl wissentlich die Versuchsbedingungen völlig gleich gehalten wurden. Die Unterschiede waren zwar nicht beträchtlich, aber doch zweifellos vorhanden. Worauf diese Unterschiede zurückzuführen sind, habe ich mich vergeblich bemüht, durch mannigfache Variierung der Versuchsbedingungen zu ergründen.

Gerne hätte ich auch verfolgt, ob die Gewinnung des maximalen Resistenzgrades dadurch garantiert werden kann, daß man, wie dies Süpfle und Dengler empfahlen, der Vorkultur eine Tierpassage vorausschickt. Die Schwierigkeiten, Versuchstiere zu beschaffen, zwangen mich leider, von diesem Plan abzustehen. Ich machte aber wenigstens mit einem gewissen „Ersatz“ der Tierpassage eine Anzahl Versuche, indem ich das Milzbrandmaterial, das zur Anlegung der Vorkultur diente, in Serum statt in Bouillon züchtete. Die Versuche fielen aber nicht gleich-

1) In den Tabellen bedeutet: + = Wachstum, — = kein Wachstum.

sinnig aus. Die Vorkultur auf Agar, Serumagar usw. ergab niemals Resistenzunterschiede, einerlei ob die Nährböden beimpft waren mit Milzbrandbazillen, die in Serum gewachsen waren, oder mit Bouillonmilzbrandbazillen. Bei der Vorkultur auf Weizenextraktagar war manchmal die Resistenz etwas höher, wenn die Milzbrandbazillen zuvor in Serum, als wenn sie in Bouillon gezüchtet waren. Aber in anderen Versuchen war ein derartiger Unterschied nicht zu konstatieren.

Darnach ist es jedenfalls nicht unbedingt erforderlich, der Züchtung auf Weizenextraktagar eine Tierpassage vorausgehen zu lassen, um hoch resistente Milzbrandsporen zu gewinnen. Daß hierfür die Tierpassage vorteilhaft wirken könne, ist natürlich sehr wohl möglich, müßte aber besonders untersucht werden.

Wenn auch die Vorkultur auf Weizenextraktagar nicht jedes Mal Sporenmaterial der höchst möglichen Resistenz liefert, so ergibt sie doch ausnahmslos Resistenzgrade, die dem Maximum sehr nahe stehen und dabei weit die durch andersartige Vorkultur erzielte Resistenzhöhe überragen.

Diese wichtige Eigenschaft des Weizenextraktagars erhellt besonders deutlich, wenn man in großen Parallelversuchsreihen nicht nur einen einzigen, sondern gleichzeitig mehrere Milzbrandstämme prüft. Einen solchen Versuch gibt Tab. II wieder (S. 10).

Derartige Versuchsserien, wie in Tab. II, zeitigten stets zwei übereinstimmende Ergebnisse: Erstens zeigte sich jedes Mal, um wie auffallend viel höher der Resistenzgrad nach Vorkultur auf Weizenextraktagar ist, als nach Vorkultur auf den übrigen Vergleichsnährböden; z. B. Stamm Ogawa von Weizenextraktagar besitzt eine Dampfresistenz von 32 Minuten, derselbe Stamm von Agar anderer Zubereitung eine Resistenz von nur 10 Minuten. Der gewöhnliche Agar, Milchzuckeragar, Reichenbachagar unterscheiden sich in ihrer Eignung zur Bildung resistenter Sporen nicht sehr untereinander; doch lieferte bei meinen Versuchen die Vorkultur auf Reichenbachagar im Durchschnitt etwas resistentere Sporen, als die Züchtung auf gewöhnlichem oder Milchzuckeragar.

Zweitens ergab sich, daß die Resistenz verschiedener Stämme verschieden ist. Zwar besitzen, wie ich schon betonte, die einzelnen Sporen-Ernten zeitlich verschiedener Versuche nicht immer genau den gleichen Resistenzgrad; trotzdem läßt sich sehr deutlich nachweisen, daß die einzelnen Stämme in ihrer Resistenz einerseits nie über eine gewisse Höhe hinauskommen, anderseits nicht unter einen bestimmten Grenzwert sinken. Die Resistenz muß eine Stammeseigentümlichkeit sein.

Tabelle II. Versporte Fäden der Milzbrandstämme Ogawa, Freiburg, Berlin, Behring, Halle werden in Bouillon zum Auskeimen gebracht; mit diesem Material werden die zu vergleichenden Nährböden beimpft. Nach eingetretener Versporung wird die Vegetationsmasse jeder Vorkulturart an Seidenfäden angetrocknet. Vornahme der Resistenzprüfung: 26. VIII. 19.

Stämme	Vorkultur auf:	Einwirkung des Dampfes in Minuten												
		5	10	15	20	25	26	27	28	29	30	31	32	33
Ogawa	Agar	+	+	—	—	—								
	Milchzuckeragar	+	+	—	—	—								
	Reichenbachagar	+	+	—	—	—								
	Weizenextraktagar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Freiburg	Agar	+	—	—	—	—								
	Milchzuckeragar	+	+	—	—	—								
	Reichenbachagar	+	—	—	—									
	Weizenextraktagar	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—
Berlin	Agar	—	—	—	—	—								
	Milchzuckeragar	—	—	—	—	—								
	Reichenbachagar	+	+	—	—	—								
	Weizenextraktagar	+	+	+	+	+		—	—	—	—	—	—	—
Behring	Agar	—	—	—	—	—								
	Milchzuckeragar	—		—	—	—								
	Reichenbachagar	+	+	—	—	—								
	Weizenextraktagar	+	+	+	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Halle	Agar	—	—	—	—	—								
	Milchzuckeragar	—		—	—	—								
	Reichenbachagar	+		—	—	—								
	Weizenextraktagar	+		+		—								

Als Beleg hiefür stellte ich in Tab. III zusammen, welche Resistenzgrade die einzelnen Stämme bei zeitlich verschiedenen Ernten auf Weizenextraktagar aufwiesen.

Tabelle III. Durchschnittliche und extreme Grade der Dampfresistenz von Milzbrandsporen verschiedener Stämme nach Vorkultur auf Weizenextraktagar (nach dem Ergebnis der Prüfung zahlreicher Sporenernten).

Milzbrandstamm	niederste beobachtete Resistenz	höchste beobachtete Resistenz	durchschnittliche Resistenz (arithmetisches Mittel)
	in Minuten		
Ogawa	20	32	24
Freiburg	20	27	24
Berlin	10	25	15
Behring	15	20	17
Halle	5	15	13

Unter den fünf Milzbrandstämmen waren, wie Tab. V zeigt, zwei, die Stämme Ogawa und Freiburg, die die außerordentlich hohe Resistenz von 24—27, ja 32 Minuten aufwiesen. Ein Stamm, Milzbrand Halle, bringt es nicht über die wesentlich geringere Dampfresistenz von 13—15 Minuten; die beiden übrigen besitzen eine mittlere Resistenz. Wie fest von den einzelnen Stämmen die stammeseigene Resistenzhöhe beibehalten wird, ergab sich in besonderer Deutlichkeit bei folgendem Versuch.

In einer Versuchsreihe, die gleichzeitig mit meiner Arbeit im Institut angestellt wurde, waren dieselben Milzbrandstämme, die ich benutzte, in zwölfstündigen Intervallen bei bestimmter Temperatur in Pferdeserum (das 35 Minuten bei 58° inaktiviert worden war) gezüchtet und jeweils alle 12 Stunden auf neues Serum überimpft worden. Während sämtliche Milzbrandstämme vor Beginn dieser Versuchsreihe in Serum mächtige Kapseln gebildet hatten, verloren sie diese Fähigkeit, nachdem die regelmäßige Überimpfung einige Wochen hindurch vorgenommen worden war; dies dauerte bei den einzelnen Stämmen verschieden lange, trat aber schließlich bei allen ein. Und zwar blieb dann die Kapselbildung nicht nur in Pferdeserum aus, sondern auch in Rinder-, Ziegen-, Hammel- und Schweineserum. Es war nun interessant, zu prüfen, ob diese künstlich erzeugten Modifikationen der fünf Milzbrandstämme gleichzeitig mit dem Verlust der Fähigkeit, in Serum Kapseln zu bilden, auch eine Veränderung ihrer Resistenz erlitten hatten. Herr Heß, der diese Versuche ausführte, hatte die Freundlichkeit, mir die in Serum kapsellos wachsenden Modifikationen zu überlassen. Sie wurden auf Weizenextraktagar ausgesät und die geernteten Sporen auf ihre Dampfresistenz geprüft.

In Tab. IV sind die Ergebnisse dieser Prüfung wiedergegeben.

Tabelle IV. Dampfresistenz von Milzbrandsporen modifizierter Milzbrandstämme.

Milzbrandstamm	Modifiziert durch je 12stündige Überimpfung in Pferdeserum nach:	Dampfresistenz der aus den modifizierten Stämmen auf Weizenextraktagar geernteten Sporen in Minuten	Niederste Dampfresistenz der aus den nicht modifizierten Ausgangsstämmen auf Weizenextraktagar geernteten Sporen (vergl. Tabelle V) in Minuten:
Ogawa	26 Passagen bei 41°	20	20
Freiburg	39 Passagen bei 37°	15	20
Berlin	43 Passagen bei 41°	10	10
Behring	41 Passagen bei 37°	10	15
Halle	36 Passagen bei 37°	5	5

Die Resultate in Tab. IV zeigen, daß nur zwei der modifizierten Stämme Sporen von verminderter Resistenz liefern: das ist der Fall bei Stamm Freiburg und Stamm Behring, wo die Resistenz der aus modifizierten Formen geernteten Sporen etwas geringer ist als die niederste Resistenz, die ich in meinen sonstigen Versuchen bei von nichtmodifizierten Stämmen auf Weizenextraktagar gewonnenen Sporen jemals beobachtete. Aber diese Unterschiede sind nicht erheblich. Bei allen übrigen Stämmen deckt sich die Resistenzhöhe der Sporen aus den modifizierten Formen mit der niedersten Dampfresistenz des nichtmodifizierten Stammes, wie sie aus Tab. III zum leichteren Vergleich in Tab. IV mit eingetragen wurde.

Es wird also die jedem Stamm eigene Resistenz sehr zähe festgehalten. Daraus ergibt sich für die Praxis der Prüfung von Desinfektionsverfahren die Forderung, als Testmaterial nur notorisch resistente Milzbrandstämme zu benutzen.

Meine Untersuchungen bilden eine Ergänzung zu den Versuchen von Süpfle und Dengler. Diese hatten aufs neue gezeigt, wie wichtig es ist, das einem Desinfektionsversuch unterworfene Bakterienmaterial in optimalen Nährböden der Nachkultur zu unterziehen. Dadurch, daß sie eine ausgezeichnete Nährbodenkombination u. a. für Milzbrandbazillen ausfindig machten, gelang ihnen der überraschende Nachweis, daß die Dampfresistenz der Milzbrandsporen, die in den meisten Veröffentlichungen auf 4—6 Minuten, höchstens 12 Minuten angegeben wird, bis 30 Minuten betragen kann. Ich selbst beobachtete bei meinen Versuchen einmal eine Dampfresistenz von sogar 32 Minuten. Daß aber Süpfle und Dengler mit ihrer optimalen Nachkultur die Fähigkeit mancher Milzbrandstämme, Sporen von so hoher Dampfresistenz zu liefern, aufdecken konnten, war ihrer glücklichen Wahl zuzuschreiben, daß sie die für ihre Versuche zubereiteten Sporen auf Weizenextraktagar gezüchtet hatten — gerade auf dem Nährboden, der, wie meine Versuche dargelegt haben, der einzige ist, auf dem Milzbrandsporen von so auffallender Resistenz zu gewinnen sind.

Meine Versuche berechtigen zu folgenden Schlußfolgerungen:

1. Der von Heider angegebene Weizenextraktagar ist zur Gewinnung von Milzbrandsporen maximaler Dampfresistenz vorzüglich geeignet. Die Vorkultur auf ihm kann Sporenernten von einem Resistenzgrad liefern, der auf keinem anderen Nährboden auch nur entfernt erreicht wird.

2. Die Vorkultur auf Weizenextraktagar ergibt allerdings nicht immer Sporen der höchsten, überhaupt möglichen Resistenzhöhe; damit

diese erreicht wird, müssen Faktoren mitspielen, deren Regulierung vorläufig dem Experimentator entzogen ist.

3. Aber auch im ungünstigsten Falle besitzen Milzbrandsporen, die auf Weizenextraktagar gezüchtet wurden, einen Resistenzgrad, der ganz erheblich höher ist als bei Sporen von anderen Nährmedien. Die Vorkultur auf Weizenextraktagar garantiert also stets eine gewisse minimale Resistenzhöhe der Sporenernte.

4. Verschiedene Milzbrandstämme haben eine verschieden hohe Resistenz als Stammeseigentümlichkeit, die zähe festgehalten wird. Daher sollten als Testmaterial zur Prüfung von Desinfektionsverfahren nur notorisch resistente Milzbrandstämme benutzt werden.

Lebenslauf.

Ich, Rupert Reiter, wurde geboren am 22. September 1886 zu Berg ob Landshut in Niederbayern als Sohn des Zimmermanns Florian Reiter und seiner Ehefrau Anna, geb. Schreiner.

Nach Besuch der Volksschule meines Heimatortes und des Humanistischen Gymnasiums in Landshut, das ich 1907 mit dem Reifezeugnis verließ, widmete ich mich dem Studium der Veterinär-Medizin an der Tierärztlichen Hochschule in München, woselbst ich im Sommer 1911 als Tierarzt approbiert wurde. Nach einem dreimonatigen Praktikum am Schlachthofe in Landshut war ich bis vor Ausbruch des Krieges als Tierzuchtinspektor-Assistent in Miesbach und Aibling tätig. Als Ersatzreservist zum Heeresdienst eingezogen, kam ich am 1. September 1914 ins Feld, woselbst ich als Unterveterinär und Veterinär bei verschiedenen Formationen zwei Jahre tätig war, bis ich krankheitshalber genötigt wurde, in der Heimat, zuletzt als Oberveterinär, Garnisonsdienste zu leisten. Eine abermalige schwere Erkrankung zwang mich im Spätherbste 1918, den Dienst bei der Truppe zu verlassen; es wurde mir zur Wiederherstellung meiner Gesundheit ein länger dauernder Erholungsurlaub bewilligt.